

QUELQUES EFFETS D'ÉCLAIREMENT SUR LA PHASE
POST-INDUCTRICE DE LA GAMÉTOGÈNESE
CHEZ L'*ENTEROMORPHA PROLIFERA*,
CHLOROPHYCÉE MARINE

S. JÓNSSON*

RÉSUMÉ. La gamétogenèse après induction chez l'*E. prolifera* ne s'effectue pas normalement à l'obscurité. Tributaire de la lumière, elle est indifférente aux diverses photopériodes. Quand une photopériode est supprimée dans un cycle nycthéral, la gamétogenèse est retardée à peu près dans les mêmes proportions. Le point critique de l'éclairement au cours de la phase post-inductrice de la gamétogenèse semble se situer après la première photopériode. Sous une illumination continue, la durée d'éclairement nécessaire à l'apparition des gamètes est supérieure à celle exigée dans les différents cycles à alternance jour-nuit. Un contrôle possible de la phase post-inductrice de la gamétogenèse chez l'*E. prolifera* par la photosynthèse et/ou par un mécanisme de photo-inhibition fait l'objet de discussion.

ABSTRACT. - Induced gametogenesis in *E. prolifera* does not normally occur in darkness. Dependent on light, gametogenesis is performed under different daylengths. When one light-period in a light-dark cycle is suppressed, gametogenesis is delayed approximately in the same proportion. The critical point of illumination during induced gametogenesis seems to be posterior to the first light-period. Under continuous illumination, the light duration necessary for gametogenesis is greater than in any of the light-dark cycles investigated. A possible control of the post-induction phase of gametogenesis in *E. prolifera* by photosynthesis and/or by some mechanism of photo-inhibition is discussed.

INTRODUCTION

La formation des organes reproducteurs chez les Algues est un phénomène complexe comprenant une succession d'étapes aux cours desquelles se différencient gamètes ou spores. Or, si l'on sait que les facteurs du milieu extérieur sont susceptibles d'influencer l'ensemble de ce phénomène (KLEBS, 1896; ERBEN, 1962; DIXON et RICHARDSON, 1970; DRING, 1975), on ignore

* Laboratoire de Biologie Végétale Marine, Université Paris VI, 4 Place Jussieu, 75230 Paris Cedex 05.

Cryptogamie : Algologie, 1980, 1, 3 : 249-256.

encore à quel moment précis s'exercent les effets décrits. Des études, faites indirectement à ce sujet, suggèrent que les effets ne sont pas nécessairement invariables durant tout le processus (BÜHNEMANN, 1955a, 1955b, 1955c, 1955d, 1955e; HUSTEDE, 1957; LERSTEN et VOTH, 1960; NORDBY, 1977).

L'étude présente envisage ce problème en ce qui concerne l'influence de l'éclairement sur la phase post-inductrice de la gamétogenèse chez l'*Enteromorpha prolifera*. Comme il a été montré antérieurement (JONSSON, 1977) il est possible d'induire à volonté la reproduction chez cette espèce, et, par conséquent, d'expérimenter séparément sur les phases qui précèdent ou succèdent au traitement inducteur.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

Le matériel utilisé a été obtenu en culture, à partir d'un lot d'Algues littorales récoltées près de Reykjavik (Islande). Il s'agit d'une forme marine de l'*Enteromorpha prolifera* (O.E. Müller). J. Agardh. Les thalles, fixés au substrat par des rhizoïdes, sont longs de 3 à 10 cm, creux, filiformes, non ramifiés. Ils sont constitués de cellules souvent rectangulaires en alignements longitudinaux. Chaque cellule renferme un chloroplaste généralement à un seul pyrénioïde. Isolés, puis maintenus à 6-7°C en culture unialgale, dans l'eau de mer enrichie (ESP de Provasoli, PROVASOLI, 1968), sous 16 heures d'éclairement journalier de $1123 \text{ ergs cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$, les thalles restent stériles, malgré le renouvellement périodique du milieu.

L'induction de la gamétogenèse est réalisée par l'élimination d'un inhibiteur endogène, qui bloque la reproduction dans les thalles végétatifs (JONSSON, 1977). Le procédé, inspiré de celui employé pour induire la reproduction chez l'*Ulva mutabilis* (NILSEN et NORDBY, 1975), consiste à fragmenter les thalles en petits morceaux, chacun de 2000 cellules environ. Après rinçage rapide dans le milieu de culture, puis filtration sur toile à nylon, les fragments, resuspendus, subissent à nouveau des lavages répétés dans quatre bains successifs de 30 minutes, sous agitation modérée. Chaque lot reçoit finalement 50 fragments, soit quelques 10^5 cellules, dans une boîte de Petri contenant 25 ml de milieu frais.

Les lots induits ont été soumis aux différents modes d'illumination sous $3787 \text{ ergs cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$, à 15°C. L'éclairage a été fourni par des lampes fluorescentes du type Sylvania Gros Lux, particulièrement riches en radiations bleues et rouges. L'appréciation de l'action des traitements étudiés a été faite en évaluant le temps nécessaire à l'accomplissement de la gamétogenèse, c'est-à-dire à la libération des gamètes.

RÉSULTATS

I. — Effet de l'obscurité continue

Cette expérience visait à savoir si la gamétogenèse une fois induite nécessitait de la lumière.

Un lot de fragments de thalles induits a été placé à l'obscurité à côté d'un lot

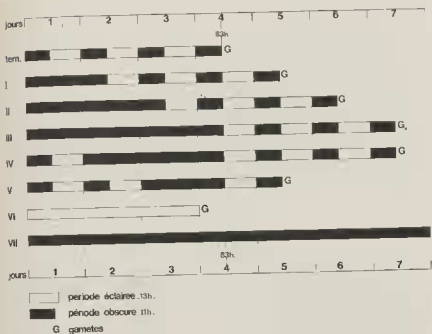


Fig. 1. Effets de différents photorégimes sur la gamétogenèse préablement induite chez *Enteromorpha prolifera*; expériences faites à 15°C sous un éclairage de 3787 ergs $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$. — tém. témoin recevant 13 heures d'éclairage journalier; la gamétogenèse (G) s'effectue, de façon synchrone, 83 heures après le début de l'induction, c'est-à-dire après avoir reçu 3 photopériodes; — I : suppression d'une photopériode supplémentaire; la gamétogenèse (G) exige une photopériode supplémentaire; — II : suppression de deux photopériodes le premier et le deuxième jour suivant l'induction; la gamétogenèse (G) exige deux photopériodes supplémentaires; — III : suppression de trois photopériodes le premier, le deuxième et le troisième jour après l'induction; la gamétogenèse (G) exige trois photopériodes supplémentaires; — IV : suppression de deux photopériodes le deuxième et le troisième jour suivant l'induction; la gamétogenèse (G) exige trois photopériodes supplémentaires; l'effet de la première photopériode est annulé, contrairement à ce qui se produit en II; — V : suppression d'une photopériode le troisième jour suivant l'induction; la gamétogenèse (G) exige une photopériode supplémentaire par rapport au témoin, analogue à I; — VI : effet de la lumière continue, la gamétogenèse (G) s'effectue 72 heures après l'induction; — VII : effet de l'obscurité continue; la gamétogenèse ne s'est pas réalisée 7 jours après l'induction.

témoin soumis à un cycle de 13 h d'éclairage journalier. On constate que la gamétogenèse s'accomplit dans le lot témoin au bout de 83 heures, soit après 3 cycles photopériodiques complets et après avoir reçu une illumination totale de 39 heures. Tous les fragments de thalle se transforment en gamétocystes et l'émission des gamètes biflagellés s'effectue de façon plus ou moins synchrone au début de la quatrième période lumineuse (fig. 1, tém.). Par contre, l'examen de fragments prélevés à ce moment dans le lot obscurci ne révèle aucun signe

de gamétogenèse. Il en est de même si l'on prolonge le traitement à l'obscurité pendant 7 jours (fig. 1, VII).

L'expérience montre que la lumière est indispensable à l'accomplissement de la phase post-inductrice de la gamétogenèse dans ce cas.

2. — Effet de différentes photopériodes

Une seconde expérience a été entreprise en vue de savoir si la gamétogenèse après induction dépendait de la photopériode.

Des fragments de thalle induits ont été soumis à des photopériodes correspondant au jour court (8 h jour/16 h nuit) et au jour long (16 h jour/8 h nuit). Le tableau I rend compte des résultats obtenus comparativement à ceux obtenus précédemment en jour moyen (13 h jour/11 h nuit).

TABLEAU I

Enteromorpha prolifera : nombre de cycles photopériodiques, durée totale de l'éclairement et durée finale nécessaires à la gamétogenèse en fonction de différentes photopériodes.

photopériodes (h)	nombre de cycles photopériodiques complets	durée totale de l'éclairement (h)	durée de la gamétogenèse (h)
8 h jour/16 h nuit	3	24	88
13 h jour/11 h nuit	3	39	83
16 h jour/ 8 h nuit	2	32	56

Il apparaît que la gamétogenèse s'accomplit sous différentes photopériodes. En jour court et moyen il faut 3 cycles photopériodiques complets pour que la gamétogenèse se réalise, alors que 2 cycles suffisent en jour long. On voit, de plus, que la durée totale de l'éclairement nécessaire à la gamétogenèse n'est pas la même sous différentes photopériodes. Cette durée est la plus réduite en jour court, alors qu'elle est la plus longue en jour moyen. Quant à la durée totale de la gamétogenèse, elle est d'autant plus longue que la photopériode est plus courte.

3. — Effet de la lumière continue

Les expériences précédentes indiquaient que la gamétogenèse induite nécessitait, pour s'accomplir, une certaine durée d'éclairement, alors qu'elle était inhibée par l'obscurité. Il était donc intéressant de savoir si la gamétogenèse pouvait se réaliser sous une illumination continue, et, s'il en était ainsi, dans quel laps de temps.

Des fragments induits ont donc été placés sous un éclairage ininterrompu. Dans ces conditions il a été constaté que la gamétogenèse s'accomplissait en 72 heures, c'est-à-dire après une durée d'illumination nettement supérieure à celle exigée sous les cycles photopériodiques (fig. 1, VI). Des anomalies accusées ont aussi été notées au niveau des gamètes émis : séparation incomplète, taille variable, nombre élevé de flagelles, nage fantaisiste...

4. — Effet de perturbations de l'éclairement au cours de la gamétogenèse

On pouvait se demander si le besoin en éclaircissement se manifestait à un moment donné de la phase post-inductrice de la gamétogenèse. Quelques expériences ont été conduites pour tenter de répondre à cette question. Elles consistaient à étudier l'effet de l'annulation d'une, deux ou trois périodes lumineuses dans un cycle photopériodique de 13 heures d'éclaircissement journalier. L'appréciation de l'action des traitements étudiés a été faite en évaluant le nombre de photopériodes nécessaires à la gamétogenèse après le transfert des lots expérimentaux en cycle photopériodique de référence (13:11).

a) *Suppression de trois périodes lumineuses.* La manipulation consistait à cultiver des fragments induits pendant 83 heures à l'obscurité, puis à les placer sous le cycle de référence (fig. 1, III). Cette expérience a montré que l'obscurissement provoquait simplement un retard de la gamétogenèse sur le témoin (fig. 1, tém.). Il a fallu, en effet, trois photopériodes pour que la gamétogenèse s'accomplisse.

b) *Suppression d'une période lumineuse.* De la même façon, il a été procédé à l'annulation d'une photopériode, soit durant le premier jour (fig. 1, I), soit durant le troisième jour suivant l'induction (fig. 1, IV). Les résultats ont été exactement les mêmes. Dans les deux cas, la gamétogenèse a exigé une photopériode supplémentaire pour s'achever.

c) *Suppression de deux périodes lumineuses.* Dans ce cas, les deux photopériodes ont été annulées soit pendant les deux premiers jours suivant l'induction (fig. 1, II), soit pendant le deuxième et le troisième jour (fig. 1, IV). Les résultats n'ont pas été les mêmes. Dans le premier cas, la gamétogenèse a exigé, comme auparavant, trois photopériodes pour s'accomplir, alors que dans le second cas, elle a reçu au total quatre photopériodes. Les gamètes ont été libérés à la fin de la quatrième période lumineuse, voire au début de la période éclairée suivante. L'effet de la première période lumineuse s'avère annulé.

Il apparaît donc que la suppression de la deuxième et de la troisième photopériode perturbe la gamétogenèse par rapport à un cycle normal à trois photopériodes. Les expériences montrent, en outre, que la gamétogenèse après induction exige à peu près la même durée d'éclaircissement pour s'accomplir, soit 39 heures, pour la photopériode considérée.

DISCUSSION

Il avait déjà été montré que la sporogenèse chez une Enteromorpha indéterminée (LERSTEN et VOTH, 1960) et l'*Ulva mutabilis* (NORDBY, 1977) ne s'effectue pas à l'obscurité. L'étude présente indique qu'il en est de même en ce qui concerne la gamétogenèse chez l'*E. prolifera*. Cependant, ceci n'est pas une règle générale chez les Algues. La sporulation du *Vaucheria sessilis*, après induction, se déroule parfaitement à l'obscurité, alors que les organes sexués nécessitent de la lumière (HUSTEDE, 1957). Un traitement à l'obscurité pendant trois semaines avant l'induction n'inhibe pas le rythme endogène de la spo-

relation chez l'*Oedogonium cardiacum* (BÜHNEMANN, 1955a). De plus, on sait que la sporulation du *Protosiphon botryoides* (KLEBS, 1896; STEWART et O'KELLEY, 1966) et la maturation des gamètes de l'*Acetabularia mediterranea* (KOOP, 1975) s'accomplissent à l'abri de la lumière. Chez le *Protosiphon botryoides* la lumière jaune (580 nm) produit le même effet que l'obscurité, tandis que la lumière bleue (430 nm) est complètement inhibitrice, ce qui suggère l'implication d'un mécanisme photoréversible dans ce processus (THOMAS et al., 1975). Un système analogue pourrait fonctionner chez l'*Acetabularia mediterranea* (KOOP, 1975).

Le fait que la gamétogenèse après induction chez l'*E. prolifera* ne se réalise pas à l'obscurité, alors qu'elle s'accomplit sous un cycle nyctéméral ou sous l'illumination continue, montre que la lumière est indispensable au déroulement du processus. Il paraît possible que ces exigences soient liées à une activité photosynthétique assurant un substrat trophique nécessaire à l'édification des gamètes. Le besoin d'éclairement de la gamétogenèse, à peu près constant dans un cycle photopériodique donné, renforce cette idée. De plus, après traitement des fragments induits de l'*E. prolifera* au DCMU, un inhibiteur spécifique du photosystème II, des essais préliminaires montrent que la gamétogenèse est freinée ou bloquée; de même, du matériel particulièrement riche en produits photosynthétisés peut, après induction, fructifier à l'obscurité. Enfin, il apparaît chez l'*Ulva mutabilis* que la sporulation est affectée plutôt par la quantité de lumière fournie que par la qualité (NORDBY, 1977), c'est-à-dire par l'activité photosynthétique.

Quant au moment critique de l'éclairement au cours de la gamétogenèse chez l'*E. prolifera*, il faut noter que la suppression de la 2e et de la 3e photopériode, dans un cycle à trois photopériodes, perturbe la gamétogenèse, alors que l'annulation de la 3e photopériode n'a pas d'effet. Ceci semble indiquer que la période critique de l'éclairement se situe après la 1ère photopériode. Cette phase correspond probablement à l'amorce de la différenciation gamétogène.

L'effet de l'illumination continue sur le déroulement de la phase post-inductrice de la gamétogenèse chez l'*E. prolifera* montre que la durée de l'éclairement n'est pas seule en cause. S'il en était ainsi, cette durée serait la même sous différents modes d'illumination. Or, en lumière continue les gamètes n'apparaissent qu'après un temps d'éclairement qui dépasse largement celui exigé sous un cycle nyctéméral. Il est probable que ce décalage soit lié à un phénomène de photo-inhibition. Ce phénomène n'est pas inconnu chez les Algues. Chez le *Stigeoclonium falklandicum* il a été démontré que la sporulation, après induction, est totalement bloquée en éclairage blanc continu (2000 lux) à la suite d'une néoformation d'un inhibiteur endogène. Le renouvellement du milieu et l'adoption d'un régime nyctéméral est nécessaire pour éliminer l'inhibiteur et réinduire la sporulation (HUSTEDE, 1957). Un phénomène analogue a été signalé chez le *Protosiphon botryoides* (STEWART et O'KELLEY, 1966). Dans ce cas on sait que le facteur inhibiteur est un photorécepteur dont la forme inactive dépend des radiations bleues (THOMAS et al., 1975). Enfin, les gamétophytes du *Laminaria hyperborea*, maintenus sous un éclairage blanc de faible intensité, restent stériles si l'on ne renouvelle pas leur milieu de culture (KAIN, 1964),

fait qui rappelle les cas précédents, mais qui doit aussi être rapproché des résultats obtenus chez d'autres espèces de Laminaires, où la gamétogenèse est inhibée surtout par la lumière rouge (LÜNING et DRING, 1975; COSSON *et al.*, 1976).

Les exigences photopériodiques de la reproduction sont multiples chez les Algues. Chez le *Porphyra tenera*, par exemple, les gamétophytes sont induits en jour long, tandis que les sporophytes (*Conchocelis*) le sont, soit en jour court (conchosporites) soit indifféremment en jour long ou jour court (monosporites) (OOHUSA, 1971). De plus, les besoins photopériodiques peuvent varier pour un même type d'élément reproducteur ou d'un caractère morphologique déterminé selon l'origine géographique de l'espèce. C'est le cas des sporocystes du *Rhodochorton purpureum* (WEST, 1972) et de la formation de thalles dressés sur les disques prostrés du *Scytosiphon lomentaria* (DRING et LÜNING, 1975; KRISTIANSEN et PEDERSEN, 1979). On sait aussi que, chez certaines Algues de jour court, l'induction des organes reproducteurs dépend (MAYHOUB *et al.*, 1976) ou ne dépend pas (CORTEL-BREEMAN et ten HOOPEN, 1978) de l'existence d'un photorécepteur. Dans ces conditions, il n'est pas surprenant de constater que la gamétogenèse après induction chez l'E. *prolifera* ne semble pas obéir à un contrôle photopériodique.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BUHNEMANN, F., 1955a - Die rhythmische Sporenbildung von *Oedogonium cardiacum* Witr. *Biol. Zentralbl.* 74 : 1-54.
- BUHNEMANN, F., 1955b - Die endodiurnale System der *Oedogonium*zelle II. Die Einfluss von Stoffwechselfaktoren und anderen Wirkstoffen. *Biol. Zentralbl.* 74 : 691-705.
- BUHNEMANN, F., 1955c - Das endodiurnale System der *Oedogonium*zelle III. Über den Temperatureinfluss. *Zeitschr. Naturf.* 106 : 305-310.
- BUHNEMANN, F., 1955d - Das endodiurnale System der *Oedogonium*zelle. IV. Mitteilung. Die Wirkung verschiedener Spektralbereiche auf die Sporulations- und Mitoserhythmik. *Planta* 46 : 227-255.
- BUHNEMANN, F., 1955e - Untersuchungen über einen Sporulations- und Wachstums-hemmstoff in *Oedogonium*-Kulturen. *Archiv Mikrobiol.* 23 : 14-27.
- CORTEL-BREEMAN, A.M. et TEN HOOPEN, A., 1978 - The short day response in *Acrosymphyton purpuriferum* (J. Ag.) Sjöst. (Rhodophyceae, Cryptonemiales). *Phycologia* 17 : 125-132.
- COSSON, J., GAYRAL, P. et JACQUES, R., 1976 - Action de la composition spectrale de la lumière sur la croissance et la reproduction des gamétophytes de la *Laminaria digitata* (L.) Lam. (Phéophycée, Laminariales). *C.R. Acad. Sc. Paris D*, 283 : 1293-1296.
- DIXON, P.S. et RICHARDSON, W.N., 1970 - Growth and reproduction in red algae in relation to light and dark cycles. *Ann. N.Y. Acad. Sc.* 175 : 764-777.
- DRING, M.J., 1975 - Reproduction. *Algal Physiology and Biochemistry*. Ed. W.P.D. Steward. Botanical Monographs, Blackwell Scientific Publ., vol. 10 : 814-837.
- DRING, M.J. et LUNING, K., 1975 - A photoperiodic response mediated by blue light in the brown alga *Scytosiphon lomentaria*. *Planta* (Berl.) 125 : 25-32.
- ERBEN, K., 1962 - Sporulation. *Physiology and Biochemistry of Algae*. Ed. Lewin, R.A., Academic Press, New York & London, p. : 701-710.

- HUSTEDE, H., 1957 — Untersuchungen über die stoffliche Beeinflussung der Entwicklung von *Stigeoclonium falklandicum* und *Vaucheria sessilis* durch Tryptophanabkömmlinge. *Biol. Zentralbl.* 79 : 555-595.
- JONSSON, S., 1977 — Contrôle expérimental de la gamétogenèse chez l'*Enteromorpha prolifera*, Chlorophycée marine. *C.R. Acad. Sci. Paris*, D 285 : 709-711.
- KAIN, J.M., 1964 — Aspects of the biology of *Laminaria hyperborea*. 3. Survival and growth of gametophytes. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 44 : 129-143.
- KLEBS, G., 1896 — Die Bedingungen der Fortpflanzungen bei einigen Algen und Pilzen. Jena.
- KOOP, H.U., 1975 — Germination of cysts in *Acetabularia mediterranea*. *Protoplasma* 84 : 137-146.
- KRISTIANSEN, A. et PEDERSEN, P.M., 1979 — Studies on life history and seasonal variation of *Scytosiphon lomentaria* (Fucophyceae, Scytosiphonales) in Denmark. *Bot. Tidskr.* 74 : 31-56.
- LERSTEN, N.R. et VOTH, P.D., 1960 — Experimental control of zoid discharge and rhizoid formation in the green alga *Enteromorpha*. *Bot. Gaz.* 122 : 33-45.
- LÜNING, K. et DRING, M.J., 1975 — Reproduction, growth and photosynthesis of gametophytes of *Laminaria saccharina* grown in blue and red light. *Marine Biol.* 29 : 195-200.
- MAYHOUB, H., GAYRAL, P. et JACQUES, R., 1976 — Action de la composition spectrale de la lumière sur la croissance et la reproduction de *Calosiphonia vermicularis* (J. A. Gardh) Schmitz (Rhodophycées, Gigartinales). *C.R. Acad. Sci. Paris*, D 283 : 1041-1044.
- NILSEN, G. et NORDBY, Ø., 1975 — A sporulation-inhibiting substance from vegetative thalli of the green alga *Ulva mutabilis*. *Føyn. Planta* (Berl.) 125 : 127-139.
- NORDBY, Ø., 1977 — Optimal conditions for meiotic spore formation in *Ulva mutabilis*. *Føyn. Bot. Marina* 20 : 19-28.
- OCHUSA, T., 1971 — Cultivation of Asakusanor (laver) in Japan. Occas. Pap. Yamamoto Nori Res. Lab. : 2 p. Dans : Michanek, G. (1975), *FAO Fish. Tech. Pap.* (138) : 127 p. Seaweed resources of the ocean.
- PROVASOLI, L., 1968 — Media and prospects for cultivation of marine algae. *Proc. U.S. Jap. Conf. Hakone*, Sept. 1966. *Jap. Soc. Pl. Physiol.* : 63-75, 2 tab.
- STEWART, J.R. et O'KELLEY, J.C., 1966 — Periodic zoospore production by *Protosiphon botryoides* under alternating light dark periods. *Am. J. Bot.* 53 : 772-777.
- THOMAS, J.P., O'KELLEY, J.C., HARDMAN, J.K. et ALDRIDGE, E.F., 1975 — Flavin as an active component of photoreversible pigment system of the green alga *Protosiphon botryoides* Klebs. *Photochem. Photobiol.* 22 : 135-138.
- WEST, J.A., 1972 — Environmental regulation of reproduction in *Rhodochorton purpu reum*. Contribution to the systematics of benthic marine algae of the North Pacific. Ed. I.A. Abbott & M. Kurogi (*Jap. Soc. Phycol.*) : 213-230.